

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBIOTIKA DARI
AIR KANAL AL-MARKAZ MAKASSAR**



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih

Gelar Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi

Fakultas Ilmu Kesehatan

UIN Alauddin Makassar

Oleh

RISKAWATI

NIM. 701 001 05 045

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UIN ALAUDDIN MAKASSAR

2010

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertandatangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, November 2010
Penulis

RISKAWATI
NIM: 701 001 05 045

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

KATA PENGANTAR



Assalamu Alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang senantiasa melimpahkan hidayah dan karuniaNya, hingga penulis dapat menyelesaikahn skripsi yang berjudul ''Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik Dari Air Kanal AL-Markaz Makassar''.Terkirim pula shalawat dan salam terlimpah kepada Rasulullah SAW. Sakripsi ini merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Ilmu Kesehatan.

Dengan segala rasa hormat dan kerendahan hati, penulis haturkan rasa terima kasih kepada :

1. **Bapak Rusli S.Si, M.Si, Apt,** selaku pembimbing pertama yang telah meluagkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan kepada penulis serta turut memberikan gagasan-gagasan dalam proses penyempurnaan penulisan ini.
2. **Ibu Haeria S.Si,** selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan banyak waktunya untuk memberikan bimbingan kepada penulis.

3. **Ibu Isriany Ismail S.Si, Apt**, selaku penguji I dan Bapak **Drs. Dudung Abdullah, M.Ag**, selaku penguji II atas semua saran dan kritiknya demi perbaikan skripsi ini.
4. Ketua Program Studi Farmasi
5. Bapak dan Ibu Staf dan Dosen Pengajar di Program Studi Farmasi
6. Teman-teman seangkatan di Program Studi Farmasi khususnya dan di Fakultas Ilmu Kesehatan pada umumnya yang tak mungkin dapat disebutkan satu-persatu tempat berbagai macam hal yang akan selalu tertancap kuat di ingatan penulis.

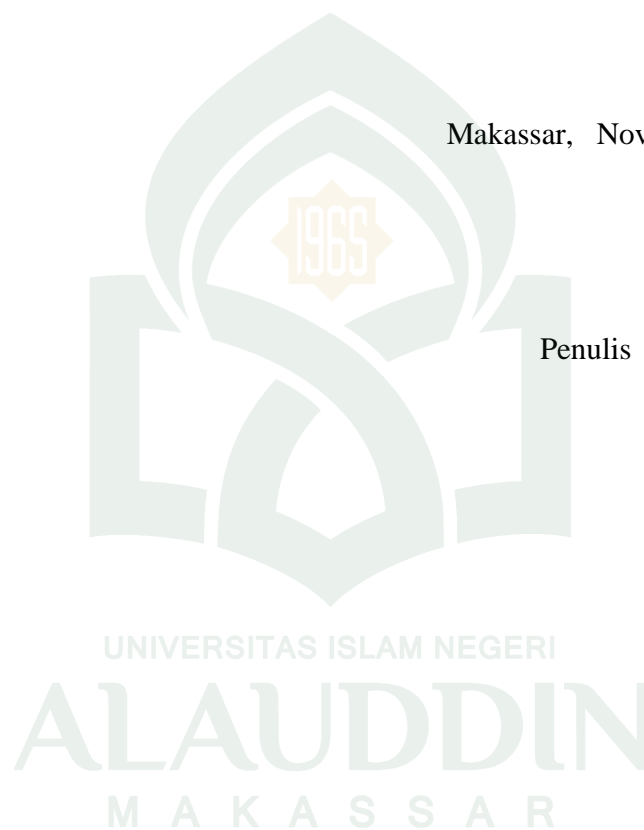
Penulis berharap agar skripsi ini juga dapat memiliki manfaat kepada yang lain meski itu hanya seumpama sinar yang memberi cahaya di tempat yang telah cukup terang.

Pada kesempatan ini pula dengan rasa haru dan bangga penulis menghanturkan khusus kepada yang tercinta Ayahanda **Risman** dan Ibunda **Kadaria**, atas segala pengorbanannya selama ini, sujud sembah Ananda hanturkan rasa terima kasih atas segala jerih payah baik moril maupun materil dalam membesarkan dan mengarahkan penulis. Nenekanda tercinta **Hadda** atas segala kasih sayangnya selama ini. Saudara-saudaraku **Ridwan, Muh.Rizal**, dan **Rasnawati**. Sahabat-sahabat penulis **Novi, Ismi, Alief, Nida, Ririn, Erni, Jamiat, Sakina, Evie** terima kasih atas persahabatannya selama ini. Teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi **Nurafianti** dan **Mutmainnah Abdullah**. Tak lupa buat kakak **Andi Muhammad Irfan, SE** yang memberikan dukungan dan motivasi pada saya.

Akhirnya dengan segala keterbatasan yang ada, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pengembangan Ilmu Pengetahuan.

Makassar, November 2010

Penulis



ABSTRAK

Nama Penyusun : Riskawati
NIM : 70100105045
Judul Skripsi : Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotik dari Air Kanal
Al-Markaz Makassar

Telah dilakukan penelitian isolasi mikroba penghasil antibiotika dari air kanal Al-Markaz Makassar. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan adanya mikroba dari air kanal Al-Markaz Makassar yang dapat menghasilkan antibiotik. Tahap pertama isolasi mikroba dilakukan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-7} dengan menggunakan metode tuang pada medium Nutrien Agar (NA) dan Potato Dextrosa Agar (PDA). Hasil isolasi didapatkan 5 isolat bakteri dan 6 isolat jamur yang menunjukkan zona bening di sekitarnya, kemudian difermentasi menggunakan medium Maltosa Yeast Broth (MYB). Aktivitasnya diujikan menggunakan metode difusi agar dalam medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) terhadap mikroba uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa yang memberikan aktivitas yang terbaik adalah Isolat RB₄, isolat RB₅, isolat RB₆, dan isolat RB₇, sedangkan isolat jamur yang memberikan aktivitas adalah Isolat RJ₁, Isolat RJ₃, isolat RJ₄, isolat RJ₅, dan isolat RJ₇. Tahap selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi, secara mikroskopik dilakukan pengecatan Gram, dimana isolat RB₁ termasuk Gram positif berbentuk batang, isolat RB₂ RB₄, dan RB₅ termasuk Gram negatif berbentuk bulat, dan isolat RB₃ termasuk Gram positif berbentuk bulat.

ABSTRACT

Author : Riskawati
Student Reg. Number : 70100105045
Title : Isolation of Microbe Producing Antibiotic from kanal irrigation water, Al-Markaz Makassar

A research about isolation and characterisation of microba producing antibiotik from irrigate canal Al-markaz Makassar. In first step, isolation of microbe was done by diluting at concentration 10^{-1} to 10^{-7} by using pour method on Nutrien Agar (NA) medium and Potato Dextrose Agar (PDA) medium. The result of isolation was 5 bacteria isolate and 5 fungus isolat which then fermented by using Maltosa Yeast Broth (MYB) medium. Their activity was tested by using agar diffusion method on Glukose Nutrient Agar (GNA) medium to tested microbe.

The result of isolation showed that isolate which had activity to microbe were RB₂ isolate, RB₃ isolate, RB₅ isolate and RB₆ isolate, whereas isolats which had activity to fungus were RJ₁ isolate, RJ₃ isolate, RJ₄ isolate, RMJ₆ isolate and RJ₇ isolate. Next step, observation of morphology was done in a macroscopic manner by looking growing of upright NA medium, sloping NA medium, and NB medium and in a microscopic manner by Gram painting which RB₁ isolate and RB₅ isolate, isolate were positive Gram bacteria that their shape was spherical; RB₃ isolate was positive Gram bacteria that their shape was stick; RB₂ isolate and RB₄ isolate was negative Gram bacteria that has shape like spherical.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACK	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. <i>Latar Belakang</i>	1
B. <i>Rumusan Masalah</i>	3
C. <i>Tujuan Penelitian</i>	4
D. <i>Kegunaan penelitian</i>	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. <i>Pengertian Air Limbah</i>	5
B. <i>Dampak buruk air limbah</i>	6
C. <i>Pengolahan iar limbah</i>	6
D. <i>Mikroorganisme air</i>	7
E. <i>Antibotika</i>	8
F. <i>Tehnik isolasi mikroba</i>	9
G. <i>Uji aktivitas antibiotika dengan method difusi agar</i>	10
H. <i>Pengecatan agar</i>	11
I. <i>Uraian bakteri uji</i>	12
J. <i>Tinjauan islam mengenai mikroba penghasil antibiotika</i>	19

BAB	III	METODOLOGI PENELITIAN	24
	A.	<i>Alat yang Digunakan</i>	24
	B.	<i>Bahan yang digunakan</i>	24
	C.	<i>Prosedur kerja</i>	24
	D.	<i>Pengambilan dan penyiapan sampel</i>	25
	E.	<i>Penyiapan mikroba uji.....</i>	27
	F.	<i>Pengujian aktivitas antibiotika</i>	27
	G.	<i>Identifikasi morfologi secara mikroskopik dengan pewarnaan garam.....</i>	28
BAB	IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
	A.	<i>Hasil Penelitian</i>	29
	B.	<i>Pembahasan.....</i>	32
BAB	V	KESIMPULAN DAN SARAN	38
	A.	<i>Kesimpulan</i>	38
	B.	<i>Saran.....</i>	39
DAFTAR PUSTAKA			40
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....			42
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....			62

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Hasil Pemurnian Isolat Mikroba Air Kanal	30
Tabel 2	Hasil Pengukuran Zona Hambat Fermentat Isolat Bakteri Terhadap Mikroba Uji	31
Tabel 3	Hasil Pengukuran Zona Hambat Fermentat Isolat Jamur Terhadap Mikroba Uji	31
Tabel 4	Hasil Pengecatan Gram Mikroba Air Kanal	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Skema kerja isolasi dan karakterisasi mikroba penghasil antibiotika Dari air kanal Al-Markaz.....	42
Gambar 2	Foto Hasil Isolat Bakteri dari Air Kanal pada Media Agar.....	43
Gambar 3	Foto Hasil Isolat Jamur dari Air Kanal pada Media Agar.....	44
Gambar 4	Foto Hasil Pemurnian Isolat Bakteri dari Air Kanal dengan Metode Kuadran pada Medium NA	45
Gambar 5	Foto Hasil Pemurnian Isolat Jamur dari Air Kanal dengan Metode Kuadran pada Medium PDA	46
Gambar 6	Foto Hasil Isolat Murni pada Medium Agar Miring	47
Gambar 7	Foto Hasil Fermentasi Isolat Mikroba	47
Gambar 8	Foto Hasil Pengujian Penghambatan Fermentat Isolat Bakteri terhadap Mikroba Uji	48
Gambar 9	Foto Hasil Pengujian Penghambatan Fermentat Isolat Jamur Terhadap Mikroba Uji	49
Gambar 11	Foto Hasil Pengecatan Gram Isolat Bakteri Murni	50
Gambar 12	Foto Sampel Air kanal	51
Gambar 13	Foto Disk Blak.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I Gambar Skema Kerja	42
Lampiran II Hasil Pengamatan.....	43
Lampiran III Pembuatan Medium.....	53
Lampiran IV Pembuatan Pereaksi.....	58



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pola penyakit di Indonesia menunjukkan bahwa penyakit infeksi masih menempati urutan yang teratas sehingga kebutuhan akan obat antimikroba cukup besar. Telah diketahui bahwa bahan baku obat antimikroba ini masih sedikit diproduksi di Indonesia dalam bidang fermentasi sehingga sudah waktunya untuk mulai dikembangkan (Sapoetro, 1987,6).

Berkembangnya resistensi terhadap obat-obatan antibiotik mendorong para ilmuwan untuk melakukan berbagai penelitian. Resistensi mikroba penyebab infeksi terhadap beberapa antibiotika tertentu menimbulkan permasalahan tersendiri dalam mengatasi penyakit infeksi. Dengan melihat keberadaan mikroba air yang sangat potensial, hal ini dapat dijadikan sebagai sumber penelitian guna mendapatkan senyawa antibiotika baru (Pelczar, 1988).

Untuk mempertahankan hidupnya mikroba dapat membuat pertahanan sedikit dengan berbagai cara, salah satunya dengan menghasilkan produk metabolit sekunder. Produk metabolit sekunder tersebut dapat berupa bahan toksik yang dapat mempengaruhi metabolisme mikroba lain sehingga tidak dapat tumbuh dan berkembang biak. Bahan-bahan toksik yang dihasilkan oleh mikroba tersebut disebut sebagai antibiotika (Salle 1961, 139).

Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat tersebut, yang dibuat secara semi-sintetis, termasuk kelompok ini, begitu pula senyawa sintetis dengan khasiat antibakteri lazimnya disebut antibiotika (Tjay, 2002).

Oleh karena itu kebutuhan antibiotika baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri resistensi, virus, protozoa, fungi atau tumor, untuk mendapatkan antibiotika baru. Para peneliti banyak melakukan berbagai cara seperti biotransformasi senyawa-senyawa tertentu dengan bantuan mikroba atau membuat derivat antibiotika baru dari mikroba yang ada di alam (Naid 1999, 5).

Sumber mikroba penghasil antibiotik antara lain berasal dari udara, tanah, air laut, sampah, lumpur, kompos, limbah domestik, bahan makanan busuk, dan lain-lain (Suwandi, 1989,20).

Dari sumber ajaran Islam, terlihat banyak ayat al-Quran dan sunnah rasul yang menggambarkan bahwa penciptaan Allah di darat dan udara tidak sia-sia. Diantara ayatnya terdapat pada surah an-Nur; 45 ayat :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ ۚ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۚ تَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۚ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Terjemahnya:

“Dan Allah Telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu (Q.S. an-Nur; 45).

Ayat di atas telah membuktikan bahwa di lautan yang luas menyimpan banyak kekayaan alam yang salah satunya adalah hewan. Hal inilah yang mendasari dilakukannya penelitian untuk mengungkap rahasia Ilahi yang tersebar luas di muka bumi sebagai manifestasi rasa syukur kepada-Nya.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mencari adanya mikroba dari air kanal Al-Markaz yang dapat menghasilkan antibiotik. Cara yang digunakan adalah dengan mengisolasi mikroba yang selanjutnya ditentukan karakternya, dengan tujuan untuk menentukan mikroba dari air kanal Al-Markaz. Antibiotika yang diperoleh diharapkan dapat menambah koleksi mikroba penghasil antibiotika, sebagai bahan olahan untuk memproduksi obat antibiotika.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

Belum diketahui adanya mikroba yang terdapat dalam air kanal Al-Markaz yang memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibiotika.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan adanya mikroba dari air kanal Al-Markaz Makassar yang dapat menghasilkan antibiotik.

D. Kegunaan Penelitian

1. Sebagai sumber rujukan untuk penelitian lanjutan dan mahasiswa tentang mikroba pada air kanal yang dapat menghasilkan antibiotika.
2. Sebagai sumber data ilmiah untuk mahasiswa atau peneliti lainnya tentang antibiotika dihasilkan mikroorganisme dari air kanal Al-Markaz Makassar.
3. Sebagai dasar dalam penemuan obat antibiotika baru di masa yang akan datang.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pengertian Air Limbah

Salah satu penyebab terjadinya pencemaran air adalah air limbah yang dibuang tanpa pengolahan ke dalam suatu badan air. Menurut peraturan pemerintah Republik Indonesia nomor 82 tahun 2001, air limbah adalah sisa dari suatu usaha dan atau kegiatan yang berwujud cair. Air limbah dapat berasal dari rumah tangga (*domestic*) maupun industri (*industry*) (Mulia, 2005, 67-68).

Air limbah rumah tangga terdiri dari 3 fraksi penting :

1. Tinja (*faeces*) berpotensi mengandung mikroba patogen.
2. Air seni (*urine*). Umumnya mengandung nitrogen dan posfor, serta kemungkinan kecil mikroorganisme.
3. *Grey water*, merupakan air bekas cucian dapur, mesin cuci dan kamar mandi. Grey water sering juga disebut dengan istilah *sullage*.

Campuran feses dan urine disebut sebagai *excreta*, sedangkan campuran *excreta* dengan air bilasan toilet disebut sebagai *black water*. Mikroba patogen banyak terdapat pada *excreta*. *Excreta* ini merupakan cara transport utama bagi penyakit bawaan air.

B. Dampak Buruk Air Limbah

Air limbah yang tidak dikelola dengan baik dapat menimbulkan dampak buruk bagi mahluk hidup dan lingkungannya. Beberapa dampak buruk tersebut adalah sebagai berikut:

1. gangguan kesehatan.
2. penurunan kualitas lingkungan.
3. gangguan terhadap keindahan.
4. gangguan terhadap kerusakan benda. (Mulia ,M.2005,69)

C. Pengolahan Air Limbah

Pengolahan air limbah dapat dilakukan secara alamiah maupun dengan bantuan peralatan. Pengolahan air limbah secara alamiah biasanya dilakukan dengan bantuan kolam stabilisasi. Kolam stabilisasi merupakan kolam yang digunakan untuk mengolah air limbah secara alamiah. Kolam stabilisasi sangat direkomendasikan untuk pengolahan air limbah di daerah tropis dan negara berkembang sebab biaya yang diperlukan untuk membuatnya relatif murah tetapi membutuhkan area yang luas (Mulia, 2005, 73).

Fosfor ada di dalam air limbah melalui hasil buangan manusia, air seni, dan melalui komponen fosfat dapat digunakan untuk membuat sabun sebagai pembentuk buih. Dari setiap sumbu tersebut akan menambah jumlah total dari fosfor. Pada proses biologis dalam air limbah yang diolah jenis polifosfat ke dalam ortofosfat, sehingga fosfor buangan akhir air limbah terdiri dari 80 % ortofosfat. Air limbah yang berasal dari rumah tangga banyak sekali mengandung nitrat dan fosfor, akan tetapi diimbangi dengan kekurangan zat ini pada air limbah yang berasal dari air limbah industri. (Sugiarto, 2005, 34).

D. Mikroorganisme Air

Air dapat merupakan medium pembawa mikroorganisme patogenik yang berbahaya bagi kesehatan. Patogen yang biasa ditemukan di dalam air terutama adalah bakteri-bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan seperti *Vibrio cholerae* penyebab penyakit kolera, *Salmonella typhosa* penyebab tifus dan *S. paratyphi* penyebab paratifus, virus polio dan hepatitis. Untuk mencegah penyebaran penyakit melalui air perlu dilakukan kontrol terhadap polusi air (Fardiaz, 1992, 39).

Air merupakan komponen utama di dalam sel dan media, baik sebagai sumber oksigen untuk bahan organik sel dan respirasi, ataupun sebagai pelarut dan sebagai alat pengangkut di dalam metabolisme. Pada air yang kotor atau sudah tercampur misalnya: air selokan, air sungai atau air bangunan, didalamnya akan didapati kelompok bakteri. Seperti pada air yang masih jernih, ditambah dengan kelompok lainnya (Suriawirya, 1986, 25,26).

Mikrobakteria merupakan kuman yang tersebar luas baik di tanah, air maupun organisme lain. Kuman ini pula yang bertanggung jawab terhadap terjadinya dua jenis penyakit ganuloma kronis yang membinasakan umat manusia yaitu tuberkulosis dan kusta (Sanjaja, 1992,).

Keuntungan ekologis untuk bakteri dapat tetap berada dalam bentuk kelompok tidak selalu jelas. Populasi campuran bersatu membentuk flokulasi yang stabil di bawah satu pengendalian keadaan yang tidak banyak diketahui. Sifat ini digunakan untuk menjernihkan air dalam pengerjaan air gorong (*riol*). Dalam sistem pengaktifan lumpur, sisa-sisa buangan dalam *riol* ini diudarakan secara aktif. (Irianto, 2006, 51).

Semua bentuk kehidupan, dari mikroorganisme sampai kepada manusia, mempunyai persamaan dalam hal persyaratan nutrisi tertentu dalam bentuk zat-zat kimiawi yang diperlukan untuk pertumbuhan fungsinya yang normal. Pengamatan

berikut ini melukiskan hal tersebut dan juga menampakkan keragaman yang amat besar dalam hal tipe nutrisi yang dijumpai diantara bakteri (Pelczar, 1986, 132).

E. Antibiotika

Antibiotika adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Banyak antibiotika dewasa ini di buat secara semisintetik atau sintetik penuh (Ganiswarna, 1995, 571).

Antibiotika dapat dibedakan berdasarkan spektrum kerjanya. Antibiotika yang efektif terhadap beberapa jenis mikroorganisme baik bentuk basil, kokus, maupun spiral disebut antibiotika berspektrum luas. Sebaiknya antibiotika berdasarkan mekanisme kerjanya dapat di bagi dalam lima kelompok:

1. Mengganggu metabolisme sel mikroba.
2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba.
3. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba.
4. Menghambat sintesis protein sel mikroba.
5. Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba. (Djide, 2003)

F. Teknik Isolasi Mikroba

Teknik isolasi mikroba adalah suatu usaha untuk menumbuhkan mikroba di luar dari lingkungan alamiahnya. Pemisahan mikroba dari lingkungannya ini bertujuan untuk memperoleh biakan bakteri yang sudah tidak bercampur lagi dengan bakteri lainnya dan ini disebut dengan biakan murni.

Mikroba dapat diperoleh dari lingkungan air, tanah, udara, substrat yang berupa bahan pangan, tanaman dan hewan. Jenis mikrobanya dapat berupa bakteri, khamir, kapang dan lain-lain. Populasi mikroba dilingkungan sangat beranekaragam sehingga dalam mengisolasi diperlukan beberapa tahap penanaman sehingga berhasil diperoleh koloni tunggal. Koloni tunggal ini kemudian diperbanyak untuk suatu tujuan penelitian misalnya untuk mengisolasi DNA mikroba yang dapat mendeteksi mikroba yang telah resisten terhadap suatu antibiotika. Atau untuk mengetahui mikroba yang dipakai bioremediasi halokarbon (pencemaran akibat penggunaan insektisida) yaitu *Methylococcus capsulatus*, *Arthrobacter* dan *Phanerochaete chrysosporium*. Atau untuk proses keperluan fermentasi. (Zaraswati, 2008, 83,84)

G. Uji Aktivitas Antibiotika dengan Metode Difusi Agar

Difusi adalah proses perpindahan molekul dari satu posisi ke posisi lain. Pada metode ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah difusi silinder pipih, difusi dengan mangkuk pipih, difusi dengan kertas saring, difusi Kirby-Bauer, dan difusi agar berlapis (Djide 2003, 105).

1. Cara difusi pipih. Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh pada pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plat silinder yang diletakan pada media, kemudian larutan dimasukkan ke dalamnya.
2. Cara difusi dengan mangkuk pipih. Cara ini sama dengan silinder pipih namun perbedaannya menggunakan lubang yang dibuat langsung pada medium.
3. Cara difusi kertas saring. Cara ini menggunakan kertas saring dengan bentuk ukuran tertentu, biasanya dengan garis tengah 0,7-1 cm, yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.
4. Cara difusi Kirby-Bauer. Cara ini menggunakan alat ukur meletakkan kertas saring dan cawan yang digunakan berukuran 15x15 mm sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai larutan.
5. Cara difusi agar berlapis. Cara ini merupakan modifikasi dari Kirby-Bauer. Perbedaannya pada cara ini menggunakan dua lapis agar. Lapis pertama (*based layer*), tidak mengandung mikroba, sedangkan lapis ke dua (*seed layer*) mengandung mikroba.

H. Pengecatan Gram

Pengecatan Gram adalah pewarnaan diferensial yang sangat penting, ditemukan oleh Cristian Gram pada tahun 1884. Pada umumnya bakteri bersifat tembus cahaya, ini akan mempersulit untuk dilihat atau diteliti sekalipun di bawah mikroskop. Hal tersebut disebabkan karena banyak mikroba yang tidak mempunyai zat warna, seperti umumnya yang didapatkan pada bakteri. Berbeda dengan mikroalga yang jelas mempunyai butir-butir atau serta warna dalam selnya. Bakteri yang masih hidup tidak tampak jelas bentuk maupun sifat-sifat morfologi lainnya. Bakteri tunggal yaitu yang berupa satu sel saja, walaupun bakteri itu diambilkan dari suatu koloni tertentu. Oleh karena itu untuk memperlihatkan bagian-bagian sel diperlukan pewarnaan (Waluyo 2004, 150).

Ada kalanya, setelah suatu preparat yang sudah meresap suatu zat warna, kemudian dicuci dengan asam encer, maka semua zat warna akan terhapus. Suatu bakteri perlu diwarnai dua kali, setelah zat warna yang pertama (ungu) terserap, maka bakteri dicuci dengan alkohol, kemudian ditumpangi dengan zat warna yang berlainan, yaitu dengan zat yang berwarna merah. Jika sediaan itu dicuci dengan air, lalu dengan alkohol maka dua kemungkinan dapat terjadi. Pertama, zat warna tambahan terhapus, sehingga yang tampak ialah zat warna yang asli (ungu). Dalam hal ini bakteri itu disebut Gram positif. Kedua zat warna tambahan warna (merah) bertahan hingga zat warna asli tidak tampak dalam hal ini bakteri itu disebut Gram negatif.

I. Uraian Bakteri Uji

1. *Escherichia coli* (Garrity 2004, 24-141)

a. Klasifikasi

Domin	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

b. Sifat dan morfologi.

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus, 1, 1-1, 5 μm x 2, 0-6,0 μm , motil dengan flagelum peritrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktosa difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (Pelczar, 2008, 949).

2. *Staphylococcus aureus* (Garrity 2004, 24-187)

a. Klasifikasi

Domain	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Familia	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5 μm , terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk kolom yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama; peptidoglikan dan asam teikoat. Metabolisme secara respiratif dan fermentatif. Tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerob. Suhu optimum 35-40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas.

Kisaran inangnya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial (Pelczar, 2008, 954-955).

3. *Candida albicans* (Kill 1995, 136)

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria
Phylum : Thallophyta
Sub diviso : Deuteromycota
Class : Deuteromycetes
Familia : Cryptococaceae
Genus : Candida
Spessies : *Candida albicans*

b. Sifat dan morfologi.

Candida albicans mempunyai bentuk sel bermacam-macam. Menghasilkan banyak pseudomiselum, dapat dijumpai pada posisi yang khas menurut pengucapan multilateral. Disimilasi mingkiin okidatif, tetapi pada banyak spesies juga sangat fermentatif. Di dalam medium cair dapat berbentuk endapan, cincin dan pelikel (Pelczar, 2008, 953).

4. *Pseudomonas aeruginosa* (Garrrity 2004, 24- 95)

a. Klasifikasi

Domain : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Familia : Pseudomonadaceae
Genus : Pseudomonas
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

b. Sifat dan morfologi.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif dengan berbentuk sel tunggal, batang lurus atau melengkung, namun tidak berbentuk heliks. Pada umumnya berukuran 0,5-1,0 μm . Motil dengan flagelum polar; monotrikus atau multitrikus. Tidak menghasilkan selongsong prosteka. Metabolisme dengan respirasi, beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif, dapat menggunakan H_2 atau CO_2 sebagai sumber energi. Oksigen molekuler merupakan penerima elektron unifersal, dapat melakukan denitrifikasi dengan menggunakan nitrat sebagai penerima pilihan (Pelczar, 2008, 952).

5. *Vibrio sp* (Garrity 2004, 24-109)

a. **Klasifikasi**

Domain	: Bacteria
Phylum	: proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Familia	: Vibrionaceae
Genus	: Vibrio
Spesies	: <i>Vibrio sp</i>

b. **Sifat dan morfologi.**

Vibrio sp adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, tidak membentuk spora, sumbunya melengkung atau lurus 0,5 μm , terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk S atau spiral. Motil dengan satu flagelum polar atau pada beberapa spesies dengan dua atau lebih flagelum dalam satu berkas polar. Mempunyai sferoplas, biasanya dibentuk dalam keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan, tidak tahan asam, dan tidak membentuk kapsul. Tumbuh baik dan cepat pada medium nutrisi baku. Metabolisme dengan respirasi dan fermentasi. Suhu optimum berkisar dari 18 sampai 37°C (Pelczar, 2008, 956).

6. *Bacillus subtilis* (Garrity 2004, 24-172)

a. **Klasifikasi**

Domain	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Familia	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i>

b. **Sifat dan morfologi.**

Bacillus subtilis memiliki sel berbentuk batang 0,3-2,2 μm x 1,27-7,0 μm , sebagian besar motil; flagelum khas lateral. Membentuk endospora; tidak lebih satu sel sporangium. Termasuk bakteri Gram positif, bersifat kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi sejati, fermentasi sejati, atau kedua-duanya, yaitu respirasi dan fermentasi. Aerobik sejati atau anaerobik fakultatif. (Pelczar, 2008, 947).

7. *Streptococcus mutans* (Garrity 2004, 24- 203)

a. **Klasifikasi**

Domain : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Familia : Streptococcaceae
Genus : Streptococcus
Spesies : *streptococcus mutans*

b. **Sifat dan morfologi**

Streptococcus mutans bentuk bulat, termak bakteri Gram positif dan biasanya tidak berpigmen. Berdiameter 0,5-1,5 μ m, koloni bulat cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan. Koloni buram berwarna biru terang, bersifat fakultatif aerob, dapat tumbuh pada suhu 45°C dan suhu optimumnya. Dinding sel terdiri dari 4 komponen antigenik yaitu peptidoglikan, polisakarida, protein dan asam lipikoat (Pelczar, 2008, 955).

8. *Salmonella typhi* (Garrity 2004, 24- 203)

a. **Klasifikasi**

Domain : Bacteria
Phylum : proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : Salmonella
Spesies : *Salmonella typhi*

b. **Sifat dan morfologi**

Salmonella typhi adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 0,7-1,5 μ m, biasanya tunggal dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, jenis yang bergerak berflagela peritrik, hidup secara aerobik fakultatif, meragikan glukosa dengan menghasilkan asam kadang-kadang gas. Tumbuh optimal pada suhu 37°C dan berkembang baik pada suhu kamar, bakteri ini dapat ditemukan di saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini merupakan penyebab demam tifoid karena adanya infeksi akut pada usus halus manusia dan hewan (Pelczar 1958, 948).

9. *Staphylococcus epidermidis* (Garrity 2004, 24-178)

a. Klasifikasi

Domain	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Familia	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus epidermidis sel-selnya berbentuk bola, berdiameter 0,5 μm -1,5 μm , terdapat tunggal atau berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang, sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Merupakan bakteri Gram positif, tidak ditemukan adanya protein A, sedangkan ribitol digantikan oleh gliseril (Pelczar, 2008, 954).

J. Tinjauan Islam Mengenai Mikroba Penghasil Antibiotika

Allah SWT telah menyiratkan didalam Al-Quran akan pentingnya pengaruh lingkungan bagi kehidupan makhluk yang Ia ciptakan termasuk mikroba yang juga merupakan salah satu contoh makhluk hidup ciptaan Allah SWT, hal ini tersirat dalam beberapa ayat didalam Al-Quran diantaranya:

(Q.S Al-Baqarah 164).

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي
تَجْرَى فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا
بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ
الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Terjemahan:

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dari air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat)

tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan.” (Q.S. Al- Baqarah: 164)

Q.S Al-Furqan 61:

تَبَارَكَ الَّذِي جَعَلَ فِي السَّمَاءِ بُرُوجًا وَجَعَلَ فِيهَا سِرَاجًا وَقَمَرًا مُنِيرًا ﴿٦١﴾

Terjemahan:

”Maha Suci Allah yang menjadikan di langit gugusan-gugusan bintang dan Dia menjadikan juga padanya matahari dan bulan angin bercahaya.”(Q.S. Al-Furqan).

Dari beberapa ayat di atas dapat di ketahui bahwa Allah SWT mengisyaratkan bahwa faktor lingkungan sangat berperan dalam kehidupan mikroba. Hal ini diisyaratkan Al Quran dengan angin dan cahaya matahari yang merupakan salah satu faktor lingkungan yang berperan dalam kehidupan mikroba sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba.

Kebutuhan akan obat-obatan di era modern seperti sekarang ini sangat besar seiring dengan munculnya berbagai macam penyakit di kalangan masyarakat

(Ali Al-Ju'aisin 2001, 59).

Diriwayatkan oleh Abu Daud R.A. bahwa Rasulullah bersabda :

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ عَبْدِ الْوَاسِطِيِّ حَدَّثَنَا يَزِيدُ بْنُ هَارُونَ أَخْبَرَنَا إِسْمَاعِيلُ

بْنُ عِيَّاشٍ عَنْ ثَعْلَبَةَ بْنِ مُسْلِمٍ عَنْ أَبِي عِمْرَانَ الْأَنْصَارِيِّ عَنْ أُمِّ الدَّرْدَاءِ

عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ

الدَّاءَ وَالذَّوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ (رواه

ابو داود)

Artinya :

“Muhammad bin Ubadah Al-Wasithy menceritakan kepada kami, Yazid bin Harun menceritakan kepada kami, Ismail bin ayyas mengabarkan kepada kami dari Tsa’laba bin Muslim dari abi Imran al- Ansyari dari Ummi Darda dari Abi Darda dia berkata, Rasulullah Saw. bersabda; “sesungguhnya Allah menurunkan penyakit dan obat , serta menjadikan setiap penyakit itu ada obatnya, maka berobatlah dan jangan berobat dengan cara yang haram.”(HR. Abu Daud).

Setiap apa yang diciptakan oleh-Nya kemudian diperuntukkan kepada manusia sebagai khalifah di muka bumi ini. Ini bukan berarti bahwa manusia boleh dengan seenaknya atau semaunya menggunakan apa yang telah diciptakan-Nya itu melainkan untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya. Di riwayatkan pula oleh Muslim R.A. bahwa Rasulullah bersabda:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ (رواه مسلم)

Artinya :

“Harun bin Ma’ruf dan Abu Tahir, Ahmad bin Isa menceritakan kepada Ismail sambil berkata: Ibnu Wahab menceritakan kepada kami, Amardan Al-Harits mengabarkan kepada saya dari Abdurrabbi bin Sa’id, dari Abu Zubaer dari Jabir dari Rasulullah Saw. bahwasanya dia bersabda; “untuk semua penyakit itu ada obat,maka apabila obat bagi penderita itu telah sampai maka dia telah sembuh dengan izin Allah .” (HR. Muslim).

Jadi setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT ada obatnya, dan setiap pengobatan itu harus sesuai dengan penyakitnya. Kesembuhan seseorang dari penyakit yang diderita memang Allah SWT yang menyembuhkan, akan tetapi Allah SWT menghendaki agar pengobatan itu dipelajari oleh ahlinya agar sesuai dengan penyakit yang akan diobati sehingga akan mendorong kesembuhannya.

Islam sangat menghargai bentuk-bentuk pengobatan yang didasari oleh ilmu pengetahuan, penelitian, dan eksperimen ilmiah. Oleh karena itu setiap pengobatan hendaklah ditangani oleh para ahlinya.

Tidaklah yang diciptakan oleh Allah SWT adalah sia-sia sekecil atau sesederhana apa pun itu semisal mikroba atau yang lebih sederhana darinya, sebagaimana dalam ALQuran surah al- Imran (3):191

رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Terjemahnya:

"Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka.

Salah satu bukti nyata dari ayat di atas yang menerangkan bahwa sekecil apapun makhluk itu pasti memiliki manfaat adalah penelitian ini dimana pada penelitian ini dilakukan pencarian senyawa antibiotika yang berasal dari mikroba-mikroba yang ada di air yang nantinya diharapkan dapat bermanfaat baik di bidang ilmu pengetahuan maupun di bidang kesehatan.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat Yang Digunakan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, cawan petri, gelas erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, inkubator, Laminar Air Flow (LAF), lemari pendingin, mikroskop, oven, rak tabung, sentrifuge, shaker, spektrofotometer, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

B. Bahan Yang Digunakan

Bahan - bahan yang digunakan adalah sampel air kanal Al-Markaz, air suling, etanol 70 %, biakan murni mikroba yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio sp*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus epidermidis*, medium Nutrien Agar (NA), medium Glucose Nutrien Agar, medium Nutrien Broth (NB), medium Potato Dextrosa Agar (PDA), dan medium Maltosa Yeast Ekstrak Broth (MYB).

C. Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dicuci dengan deterjen lalu dibilas dengan air suling, kemudian alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spiritus. Alat-alat plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Pembuatan Medium

Bahan disiapkan untuk pembuatan medium Nutrien Agar (NA), medium Glucose Nutrien Agar (GNA), medium Nutrien Broth (NB), medium Potato Dextrosa Agar (PDA), medium Maltosa Yeast Ekstrak Broth (MYB), ditimbang sesuai dengan komposisi medium yang akan dibuat. Lalu dilarutkan dengan air suling steril, dan dipanaskan serta disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

D. Pengambilan dan Penyiapan Sampel

1. Pengambilan Sampel Air Kanal AL-Markaz

Sampel air kanal Al-Markaz yang diambil dengan menggunakan wadah botol yang telah disterilkan dan dilakukan pengambilan secara acak pada empat titik pengambilan, dan disimpan pada suhu 4°C atau suhu lemari es.

2. Pembuatan Suspensi Sampel

Sampel air kanal Al-Markaz pada empat titik pengambilan digabung menjadi satu, kemudian dimasukkan ke dalam botol pengencer dan dicukupkan dengan air suling steril hingga 10 ml (pengenceran 10^{-1}). Suspensi sampel dari pengenceran 10^{-1} kemudian dibuat pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} sampai dengan pengenceran 10^{-7} .

3. Pemiakan Mikroba Air Kanal

Suspensi sampel dari setiap pengenceran diambil 1 ml secara aseptis, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan medium Nutrien

Agar (NA) untuk bakteri dan medium Potato Dextrosa Agar (PDA) untuk jamur dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi 7-14 hari pada suhu 37°C.

4. Seleksi dan Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika pada Air Kanal

Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh yang memperlihatkan adanya hambatan berupa daerah bening di sekelilingnya. Koloni ini selanjutnya diisolasi dan dipindahkan pada medium yang sama. Isolasi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh biakan murni yang hanya terdiri dari satu macam koloni. Biakan murni tersebut lalu dipindahkan pada agar miring sebagai stok. Isolat bakteri yang diperoleh dimurnikan dengan diinokulasikan dengan metode kuadran.

5. Fermentasi Biakan Murni

Koloni biakan murni diambil 1 ose, diinokulasikan dalam medium NA miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam, kemudian disuspensikan dengan 2 ml larutan NaCl fisiologis dan diinokulasikan dalam 10 ml medium pembenihan cair MY-Broth, Inokulum sebanyak 2 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml medium cair MY-Broth, diinkubasi pada suhu kamar selama 1×24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 170 rpm.

E. Penyiapan Mikroba Uji

1. Peremajaan Mikroba Uji

Biakan uji yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio sp*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus*

mutans, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, masing-masing diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium NA lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1×24 jam.

Khamir uji yaitu *Candida albicans* diambil 1 ose diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium PDA miring, diinkubasikan pada suhu kamar selama 3×24 jam.

2. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Mikroba yaitu untuk uji bakteri yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril lalu diukur transmittannya pada 25 %T dengan menggunakan spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl fisiologis, sedangkan untuk mikroba uji khamir dibuat suspensi dengan cara yang sama tapi dengan pengukuran transmittan pada 75 %T.

F. Pengujian Aktivitas Antibiotika

Suspensi mikroba uji sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam 15 ml medium Nutrien Agar (NA) untuk bakteri dan medium Potato Dextrosa Agar (PDA) untuk jamur dihomogenkan, kemudian dibiarkan hingga setengah memadat. Setelah itu diletakkan disk yang sudah direndam dengan filtrat hasil fermentasi secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam. Untuk khamir uji digunakan medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3×24 jam. Daerah hambatan berupa zona bening di sekitar disk yang berisi hasil fermentat, setelah itu diukur dan dicatat.

G. Identifikasi Morfologi Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96% kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya isolat aktif diambil secara aseptik dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan. Difiksasi kembali di atas lampu spiritus. Setelah dingin ditetaskan cat Gram A (kristal violet) 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (Iodium) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan Gram C (Alkohol 96 %) selama 30 detik, dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan Gram D (Safranin) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel dibawah mikroskop dengan pembesaran tertentu.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

1. Isolasi Mikroba dari Air Limbah pada Media Agar

Dari hasil penelitian sampel air limbah yang telah diamati berhasil diisolasi 5 isolat bakteri yang memperlihatkan adanya hambatan berupa daerah bening di sekelilingnya yaitu pada pengenceran, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} sedangkan pada jamur juga diperoleh 6 isolat yang memperlihatkan adanya hambatan yaitu pada pengenceran 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-7} . Dapat dilihat pada tabel 1 Gambar 2 dan Gambar 3.

2. Pemurnian Isolat mikroba

Koloni mikroba yang memperlihatkan zona hambatan kemudian dimurnikan dengan menggunakan medium NA dan PDA pada cawan petri lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 3 x 24 jam pada suhu kamar untuk jamur, sehingga diperoleh kultur koloni mikroba yang murni, yaitu isolat yang hanya mengandung satu bentuk morfologi koloni yang sama. Isolat murni tersebut kemudian dibuat menjadi kultur dalam media agar miring sebagai stok. Dari hasil isolasi diperoleh 5 isolat murni dari bakteri dan 6 isolat murni dari jamur. Dapat dilihat pada, Gambar 4,5.

Tabel 1. Hasil Pemurnian Isolat Mikroba Air limbah

No.	Kode Bakteri dan jamur	Biakan Bakteri
1.	10^{-7} (RB ₇)	Isolat Bakteri ke1-2
2.	10^{-4} (RB ₄)	Isolat Bakteri ke-3
3.	10^{-6} (RB ₆)	Isolat Bakteri ke-4
4.	10^{-5} (RB ₅)	Isolat Bakteri ke-5
5.	10^{-1} (RJ ₁)	Isolat Bakteri ke 1-2
6.	10^{-3} (RJ ₃)	Isolat Jamur ke-3
7.	10^{-4} (RJ ₄)	Isolat Jamur ke-4
8.	10^{-5} (RJ ₅)	Isolat Jamur ke-5
9.	10^{-7} (RJ ₇)	Isolat Jamur ke-6

3. Fermentasi Isolat Mikroba

Isolat yang telah dimurnikan kemudian difermentasi menggunakan medium MYB selama 1 x 24 jam sambil dishaker dengan kecepatan 200 rpm. Dapat dilihat pada gambar 7 .

4. Uji Aktivitas Antibiotik dari Isolat Mikroba Air Limbah

Uji aktivitas antibiotik dilakukan dengan cara difusi agar dengan menggunakan medium GNA, 20 μ l suspensi mikroba uji diinokulasikan ke dalam cawan petri, lalu dituang 10 ml medium GNA, diatur sedemikian antimicrobial susceptibility test discs yang telah direndam dalam vial yang berisi metabolit sekunder dari isolat, kemudian diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi medium dan suspensi mikroba. Diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 3 x 24 jam pada suhu 27°C untuk jamur, lalu diamati zona hambatan yang terbentuk. Dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3 dan Gambar 7 dan 8.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat fermentat isolat bakteri terhadap mikroba uji.

NO	Isolat mikroba	Zona Hambatan pada Isolat (mm)								
		SA	EC	PA	SM	BS	ST	SE	VSP	CA
1	RB 1	10	10	9	8	8	8	0	10	0
2	RB 2	9	0	10	8	0	0	0	0	8
3	RB 3	7	0	0	0	0	8	0	0	10
4	RB 4	0	0	11	9	0	10	0	0	0
5	RB 5	7	9	10	9	0	8	6	10	13

Ket: 0 = Tidak ada hambatan

Tabel 3. Hasil pengukuran zona hambat fermentat isolat jamur terhadap mikroba uji.

No	Isolat mikroba	Zona Hambatan pada Isolat (mm)								
		SA	EC	PA	SM	BS	ST	SE	VSP	CA
1	RJ 1	26	15	16	18	22	23	18	20	19
2	RJ 2	0	0	0	0	25	0	18	25	0
3	RJ 3	0	0	0	0	0	0	0	21	0
4	RJ 4	0	0	0	0	19	0	0	20	0
5	RJ 5	0	0	0	19	18	0	20	17	0
6	RJ 6	0	0	0	20	20	0	0	20	0

Ket : 0 = Tidak ada hambatan

5. Pengamatan dengan Pengecetan Gram

Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk morfologi dan warna dari mikroba air limbah. Dimana warna ungu menunjukkan bakteri Gram positif, dan warna merah menunjukkan bakteri Gram negatif. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4 dan gambar 9

Tabel 4. Hasil pengecatan Gram mikroba air kanal pada perbesaran 100 x

NO.	Kode Sampel	Pengecatan Gram		
		Warna	Bentuk	Keterangan
1.	RB ₁	Ungu	Batang	Positif
2.	RB ₂	Merah	Bulat	Negatif
3.	RB ₃	Ungu	Bulat	Positif
4.	RB ₄	Merah	Bulat	Negatif
5.	RB ₅	Merah	Bulat	Negatif

Keterangan :

RB₁ = Isolat bakteri ke-1

RB₂ = Isolat bakteri ke-2

RB₃ = Isolat bakteri ke-3

RB₄ = Isolat bakteri ke-4

RB₅ = Isolat bakteri ke-5

B. Pembahasan

Pada penelitian ini, telah dilakukan pengambilan sampel air kanal dan diisolasi mikroorganisme penghasil antibiotika. Kemudian dilanjutkan dengan pemurnian, fermentasi isolat bakteri, pengujian aktivitas antibiotika dan Pengamatan pengecatan gram,

Pengambilan sampel air kanal, bertujuan untuk dapat mengisolasi bakteri yang berlainan sifatnya dengan harapan untuk menemukan isolat murni yang lebih baik, mengingat dalam komposisi zat kimia dalam air kanal yang berbeda dapat tumbuh mikroba yang berbeda pula. Dengan memperhatikan sifat morfologi dan warna yang terbentuk pada medium yang sama, dapat ditunjukkan bahwa masing-masing sampel air kanal mengandung isolat yang berbeda.

Metode isolasi yang digunakan adalah metode tuang dimana dibuat pengenceran sampel. Hal ini dimaksudkan untuk menurunkan jumlah

mikroorganisme agar diperoleh penyebaran koloni yang baik dan tidak mengalami penumpukan. Koloni-koloni yang diisolasi hanya yang memberikan daerah bening tersebut membentuk suatu zat yang dapat mempertahankan hidupnya dari kompetisi nutrisi dari koloni-koloni lain disekitarnya sehingga koloni lain tidak dapat tumbuh, hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Wattimena (1989) bahwa mikroba-mikroba penghasil antibiotika membentuk suatu zat yang dapat mempertahankan hidupnya dari kompetisi nutrisi pada medium tempat tumbuhnya.

Adapun media yang digunakan untuk mengisolasi mikroba air kanal yaitu media NA untuk bakteri dan media PDA untuk jamur. Karena kedua media tersebut mengandung nutrisi untuk kehidupan dan pertumbuhan mikroba air kanal, yaitu ekstrak beef sebagai sumber protein, pepton sebagai sumber asam amino, ekstrak kentang sebagai sumber karbohidrat, dan dekstrosa sebagai sumber karbon.

Isolat mikroba air kanal yang diperoleh ditunjukkan dengan adanya koloni bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disekitarnya. Pada media NA diperoleh 5 isolat dan pada media PDA juga diperoleh 5 isolat yang menunjukkan adanya zona hambatan. Isolat mikroba yang diperoleh dimurnikan dengan cara digoreskan pada media NA dan PDA yang lain.

Setelah memperoleh isolat yang murni, kemudian dilanjutkan dengan fermentasi dalam medium Maltosa Yeast Broth (MYB) selama 1 x 24 jam, sambil di shaker dengan kecepatan 200 rpm agar selama fermentasi bakteri akan mencapai fase stasioner dan menghasilkan metabolit sekunder, hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Salle A.J (1961) bahwa untuk mempertahankan hidup

mikroorganisme dapat membuat pertahanan sendiri dengan menghasilkan metabolit sekunder yang mempengaruhi mikroorganisme lain sehingga mikroorganisme lain itu tidak dapat tumbuh dan berkembang biak. Bahan-bahan toksik yang dihasilkan mikroorganisme itu disebut antibiotika. Sehingga untuk melihat potensi dari hasil metabolisme sekunder maka dilakukan pengujian aktivitas antibiotika.

Media fermentasi yang digunakan adalah Maltosa Yeast Broth (MYB), karena media ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, maltosa dan dekstrosa sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber asam amino, yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan mikroba uji *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Vibrio sp*, *Staphylococcus epidermidis* dan jamur *Candida albicans*. Adapun pemilihan mikroba uji tersebut karena sifat-sifatnya yang patogenik. *Bacillus subtilis* penyebab bisul, *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi kulit dan keracunan makanan sedangkan *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan karies pada gigi. *Escherichia coli* penyebab utama diare kronik, *Salmonella typhi* penyebab tifoid dan infeksi saluran kemih, *Pseudomonas aeruginosa* yang bersifat invasif dan toksigenik dapat menimbulkan kebutaan, *Vibrio sp* merupakan bakteri penghasil enterotoksin, penyebab kolera, *Staphylococcus epidermidis* penyebab infeksi neonatus dan *Candida albicans* penyebab vaginitis atau keputihan (Brooks, 1996).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibiotika yaitu metode difusi agar dengan menggunakan *Antimicrobial Susceptibility Test Discs*. Metode ini efektif dan efisien, medium yang digunakan adalah Glukosa Nutrien Agar (GNA) karena medium tersebut mengandung glukosa sebagai sumber karbon, ekstrak yeast sumber protein, pepton sebagai sumber asam amino, dan NaCl untuk menjaga sifat isotonik dari sel mikroba uji.

Hasil pengujian aktivitas antibiotik menunjukkan tidak semua isolat memberikan aktivitas terhadap mikroba uji, hal ini ditunjukkan tidak terdapat zona hambatan. Adapun isolat yang menunjukkan aktivitas terhadap mikroba uji yaitu isolat RB₁ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Vibrio sp*, yaitu 10 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 9 mm, *Streptococcus mutans* yaitu 8 mm dan *Salmonella typhi* yaitu 8 mm. Isolat RB₂ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 10 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Staphylococcus aureus* yaitu 9, *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*, yaitu 8 mm. Isolat RB₃ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Candida albicans* yaitu 10 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Salmonella typhi* yaitu 8 mm dan *Staphylococcus aureus* yaitu 7 mm. Isolat RB₄ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 11 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Salmonella typhi* yaitu 10 mm, dan *Streptococcus mutans* yaitu 9 mm. Isolat RB₅ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Candida albicans* yaitu 13 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu 10 mm, *Vibrio sp*

yaitu 10 mm, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* yaitu 9mm, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* yaitu 8 mm, *Staphylococcus aureus* yaitu 7 mm, dan *Staphylococcus epidermidis* yaitu 6 mm.

Sedangkan hasil pengujian aktivitas antibiotika terhadap jamur pada isolat RJ₁ yang memberikan daya hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 26 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Salmonella typhi* 23 mm, *Bacillus subtilis* yaitu 22 mm, *Vibrio sp* yaitu 20 mm, *Candida albicans* yaitu 19 mm, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis* yaitu 18 mm, *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 16 mm, *Escherichia coli* yaitu 15 mm, Isolat RJ₂ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Bacillus subtilis*, *Vibrio sp* yaitu 25 mm, *Staphylococcus epidermidis* 18 mm. Isolat RJ₃ memberikan daya hambat terbesar terhadap yaitu *Vibrio sp* yaitu 21 mm. Isolat RJ₄ memberikan daya hambat terhadap *Vibrio sp* yaitu, 20 mm, sedangkan *Bacillus subtilis* yaitu 19 mm. Isolat RJ₅ memberikan daya hambat terbesar terhadap *Staphylococcus epidermidis* yaitu 20 mm dibandingkan dengan mikroba uji *Streptococcus typhi* yaitu 19 mm, *Bacillus subtilis* yaitu 18 mm, dan *Vibrio sp* yaitu 17 mm. Isolat RJ₆ memberikan daya hambat yang terbesar terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio sp* yaitu 20 mm, dibandingkan dengan *Escherichia coli* yaitu 14 mm, yang ditunjukkan dengan menghambat pertumbuhan mikroba lain (memberikan daerah bening disekitarnya), hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Pelczar (1977). Bahwa mikroba penghasil antibiotika adalah mikroba yang menghasilkan zat-zat yang dalam jumlah sedikitpun mempunyai daya penghambat kegiatan mikroorganisme lain.

Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopik, yaitu dengan pengecatan Gram. Pengecatan Gram pada isolat bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang diperoleh agar dapat diklasifikasikan sebagai bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif. Isolat RB₂ dan RB₄ da RB₅ hasil penelitian termasuk ke dalam bakteri Gram negatif, dimana Gram negatif memiliki dinding sel yang tipis sehingga pada pemberian cat penutup (Safranin) dapat terwarnai. Sedangkan isolat, RB₁ dan RB₃ termasuk ke dalam bakteri Gram positif, dimana bakteri Gram positif mempunyai kadar lipid dan protein yang rendah sehingga mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol sehingga protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga kompleks kristal violet dan Iodium dipertahankan karenanya sel bakteri berwarna biru atau ungu.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa

1. Isolasi mikroba penghasil antibiotika dari Air kanal menghasilkan 5 isolat bakteri dan 6 isolat jamur yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroba uji.
2. Morfologi, aktivitas, dan isolat yang diperoleh adalah :

No.	Isolat	Morfologi	Mikroba yang dihambat
1.	RB ₁	Gram Positif (batang)	1. <i>Staphylococcus aureus</i> 2. <i>Salmonella typhi</i> , 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4. <i>Escherichia coli</i> 5. <i>Streptococcus mutans</i> 6. <i>Vibrio sp</i>
2.	RB ₂	Gram Negatif (bulat)	1. <i>Staphylococcus aureus</i> 2. <i>Candida albicans</i> 3. <i>Streptococcus mutans</i> 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3.	RB ₃	Gram Positif (bulat)	1. <i>Staphylococcus aureus</i> 2. <i>Salmonella typhi</i> 3. <i>Candida albicans</i>
4.	RB ₄	Gram Negatif (bulat)	1. <i>Streptococcus mutans</i> 2. <i>Salmonella typhi</i> 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5.	RB ₅	Gram Negatif (bulat)	1. <i>Candida albicans</i> 2. <i>Vabrio sp</i> 3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 4. <i>Salmonella typhi</i> 5. <i>Streptococcus mutans</i> 6. <i>Bacillus subtilis</i> 7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8. <i>Escherichia coli</i> 9. <i>Staphylococcus aureus</i>

B. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian identifikasi lebih lanjut terhadap koloni mikroba Air Kanal sehingga didapatkan marga atau sejerinisnya. sudah dilakukan penelitian karakterisasi senyawa antibiotika yang dihasilkan melalui dari air kanal Al-Markaz Al-Islami.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Qur'an dan Terjemahan, Departemen Agama RI, Bandung : Penerbit Jakarta, 2005
- Djide, N., dkk., 2003. "*Mikrobiologi Farmasi Terapan, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Dan Bioteknologi Farmasi*", Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Djide, N., dkk. 1992. "*Mikrobiologi Farmasi Terapan*". Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Bioteknologi Farmasi. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Hasanudin.
- Dwijoseputro, D., 1987. "*Dasar-dasar Mikrobiologi*", penerbit Djambatan. Malang.
- Fardiaz S, 1992. "*Polusi Air dan Udara*", Kanisius, Jakarta.
- Ganiswarna, S.G., 1995, "*Farmakologi dan Terapi, Edisi 4*", Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, Jakarta.
- Garrity, G, M, Bell, J, A, and Lilburn, T. G. "*Taxonomic Outline of the Prokaryotes Brgey's Manual of Systematic Bacteriology*", 2nd Edition. New York Berlin Heidelberg: Springer, United Stat ed of Amerika, 2004.
- Iranto koes, 2006, "*Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*", CV Yrama Widya.Bandung.
- Kil,M,A.. 1995. "*Candida Pracital Hand Book for Book for Suffereers,Boomsburry*",
- Mulia Ricki M, 2005, "*Kesehatan Lingkungan*", Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Naid , T. 1999, "*Potensi Bioteknologi dalam Produksi dan Pengembangan Antibiotika Baru Menuju Paradigma Sehat*". Hasanuddin University Press,
- Pleczar, J.M., and Reid, D.R. 1958. "*Microboilogy*". New York: Mc. Grow – Hill Book Company, Inc,
- Pelczar, Jr, M, J, 1988, "*Dasar-dasar Mikrobiologi*", penerjemah R,S.Hadiotomo dkk, Jakarta.
- Pelczar, Jr, M, J,. 1986, "*Dasar-dasar Mikrobiologi*", UI, Jakarta.
- Puspowardoyo Harsono. 1994. "*Mikrobiologi Pangan Hewani-Nabati*". Semarang: Kanisius.

Salle , A. J. 1961. "*Fundamental Principles of Bacteriology*", 5th edition. New York: Mc Graw Hill Company.

Sanjaja, B. 1992, "*Isolasi dan karakterisasi Mikrobakteria*", Widya Medika, Jakarta.

Sapoetro, H., 1987, "*Produksi Antibiotik di Dunia dan Indonesia, seminar antibiotic*", ITB, Bandung.s

Sugiarto, 2005, "*Pengolahan Air Limbah*", Universitas Indonesia, Jakarta.

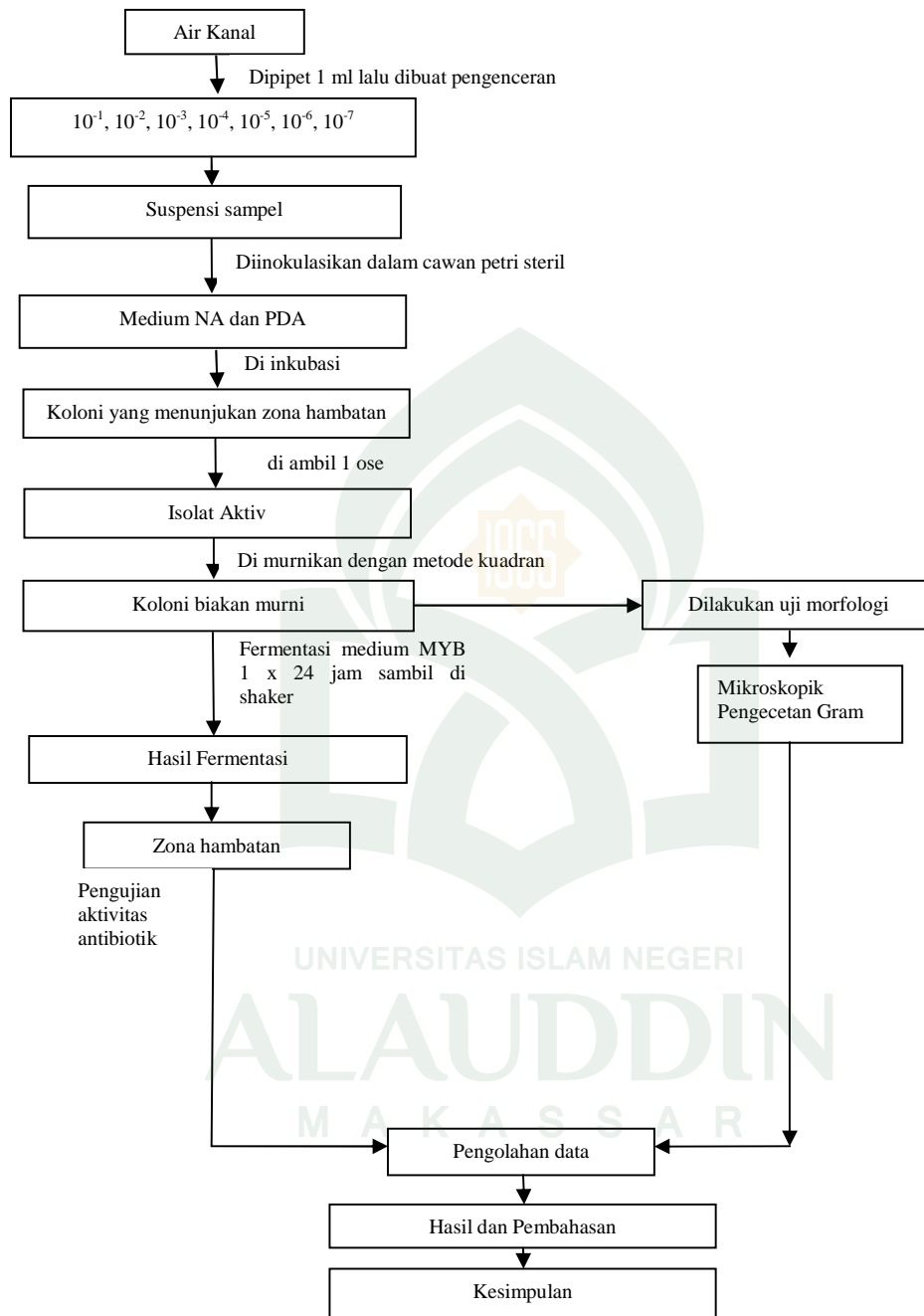
Suryawirya Anus, 1986," *Mikrobiologi Air Dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis*", Penerbit Alumni, Bandung.

Suwandi , U." *Mikroorganisme Penghasil Antibiotik*", 1989 (http : www.KalbeFarma.com, diakses 20 juni 2009).

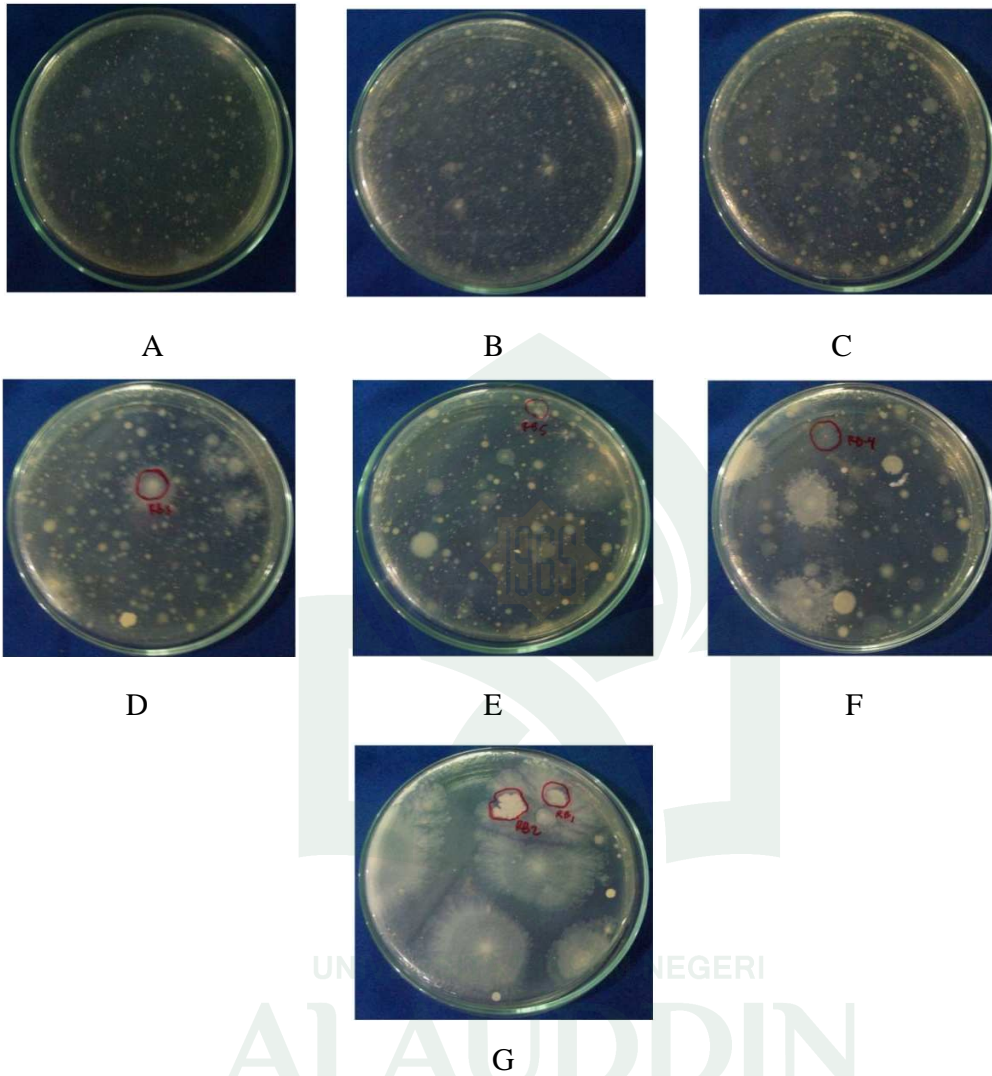
Tjay Tan H, 2002, "*Obat-obat penting*", Ed IV. Gramedia : Jakarta.

Waluyo, L. 2004. "*Mikrobiologi umum*", Malang: Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang.

Zaraswati, D, 2006, "*Mikrobiologi Farmasi*", Lembaga Penerbit UNHAS Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA.



Gambar 1. skema kerja Isolasi Mikroba Penghasil Antibiotika Dari Air Kanal AL-Markaz Makassar



Gambar 2. Foto Hasil Isolat Bakteri dari Air Kanal pada Media Agar

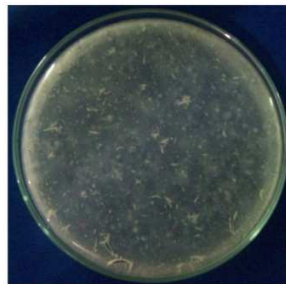
Keterangan :

A = Pengenceran 10^{-1}
B = Pengenceran 10^{-2}
C = Pengenceran 10^{-3}
D = Pengenceran 10^{-4}
E = Pengenceran 10^{-5}
F = Pengenceran 10^{-6}
G = Pengenceran 10^{-7}

1 = Koloni bakteri RB₁
2 = Koloni bakteri RB₂
3 = Koloni bakteri RB₃
4 = Koloni bakteri RB₄
5 = Koloni bakteri RB₅
6 = Koloni bakteri RB₆
7 = Koloni bakteri RB₇



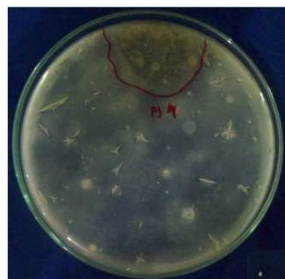
A



B



C



D



E



F



G

Gambar 3. Foto Hasil Isolat Jamur dari Air Kanal pada Media Agar

Keterangan :

A = Pengenceran 10^{-1}

B = Pengenceran 10^{-2}

C = Pengenceran 10^{-3}

D = Pengenceran 10^{-4}

E = Pengenceran 10^{-5}

F = Pengenceran 10^{-6}

G = Pengenceran 10^{-7}

1 = Koloni jamur RJ₁

2 = Koloni jamur RJ₂

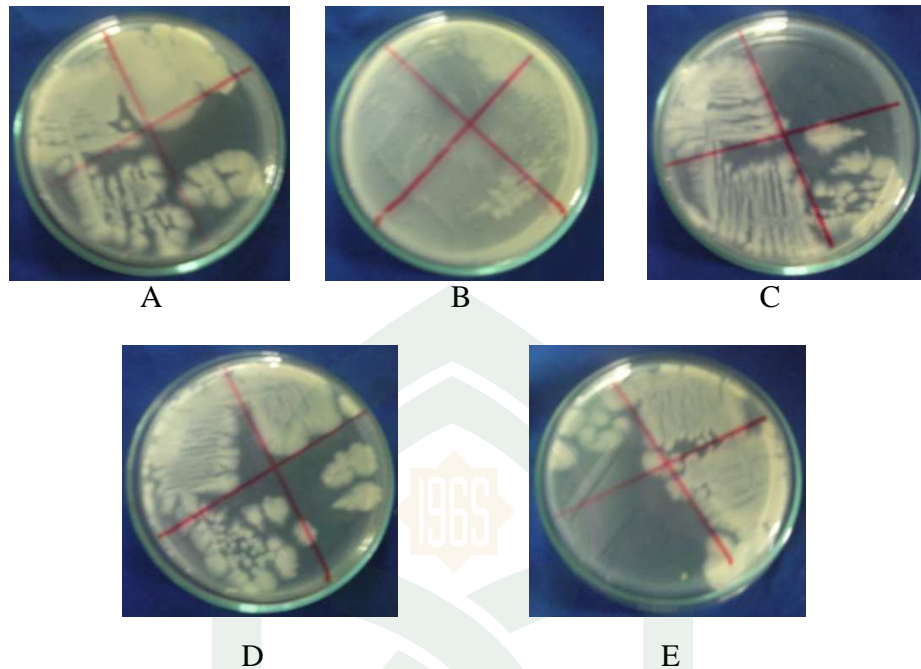
3 = Koloni jamur RJ₃

4 = Koloni jamur RJ₄

5 = Koloni jamur RJ₅

6 = Koloni jamur RJ₆

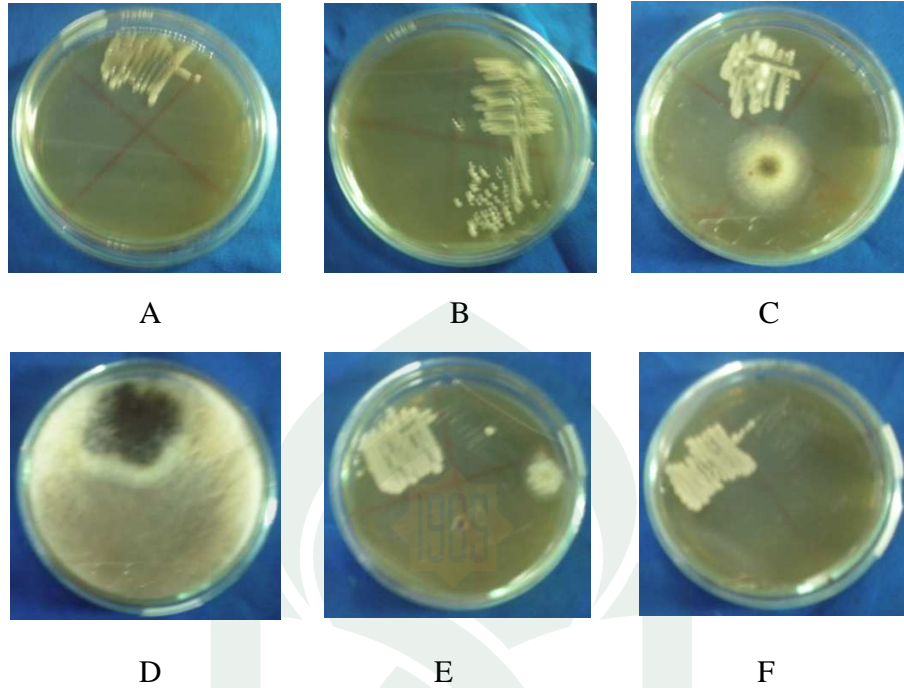
7 = Koloni jamur RJ₇



Gambar 4. Foto Hasil Pemurnian Isolat Bakteri dari Air kanal dengan Metode Kuadran pada Medium NA

Keterangan :

- A = Koloni Pemurnian Isolat Bakteri RB₁*
- B = Koloni Pemurnian Isolat Bakteri RB₂*
- C = Koloni Pemurnian Isolat Bakteri RB₃*
- D = Koloni Pemurnian Isolat Bakteri RB₄*
- E = Koloni Pemurnian Isolat Bakteri RB₅*



Gambar 5. Foto Hasil Pemurnian Isolat Jamur dari Air kanal dengan Metode Kuadran pada Medium PDA

Keterangan :

A = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₁

B = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₂

C = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₃

D = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₄

E = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₅

F = Koloni Pemurnian Isolat Jamur RJ₆



A



B

Gambar 6. Foto Hasil Isolat Murni pada Medium Agar Miring

Keterangan :

A = Koloni Isolat Murni Bakteri

B = Koloni Isolat Murni Jamur



A



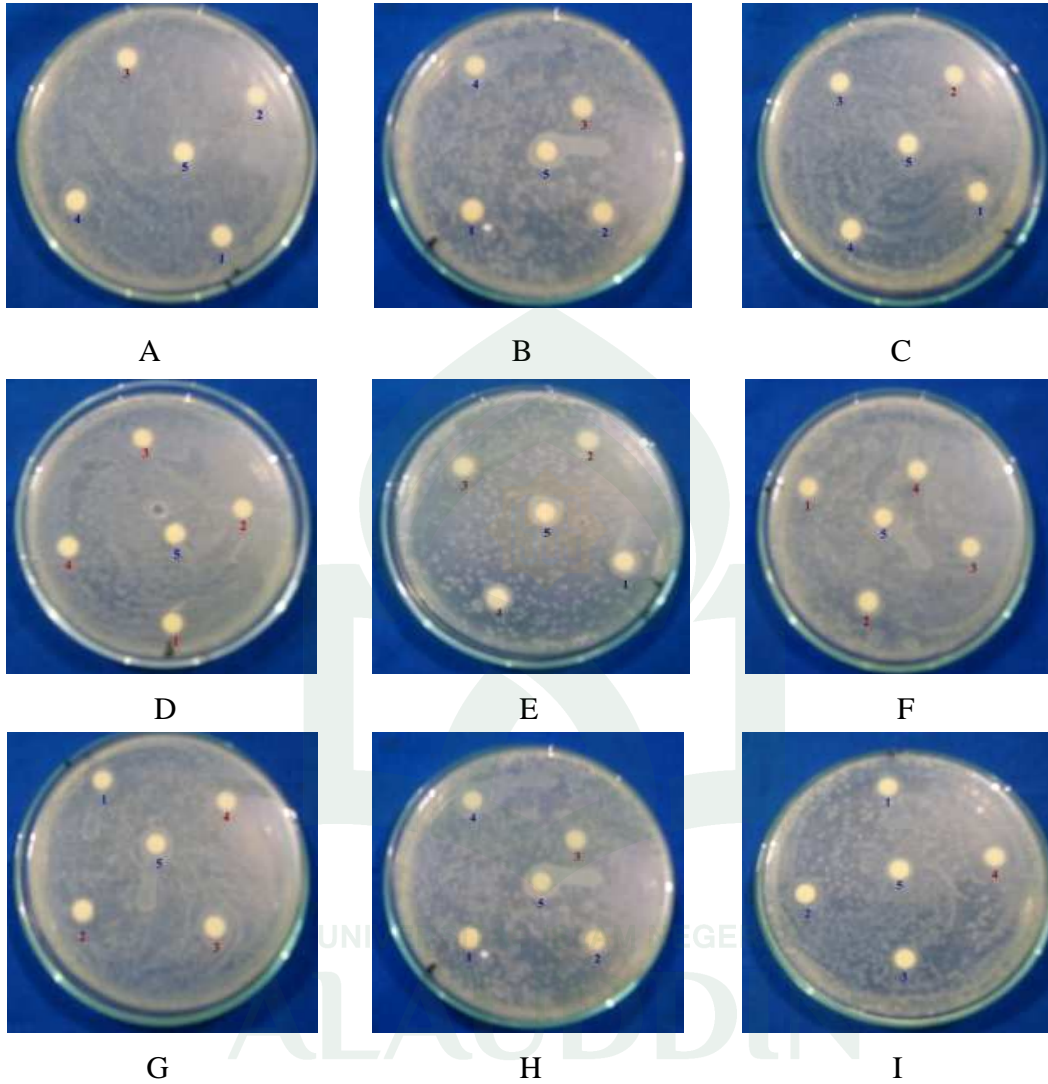
B

Gambar 7. Foto Hasil Fermentasi Isolat Mikroba

Keterangan :

A = Koloni Isolat Murni Bakteri pada Medium MYB

B = Koloni Isolat Murni Jamur pada Medium MYB

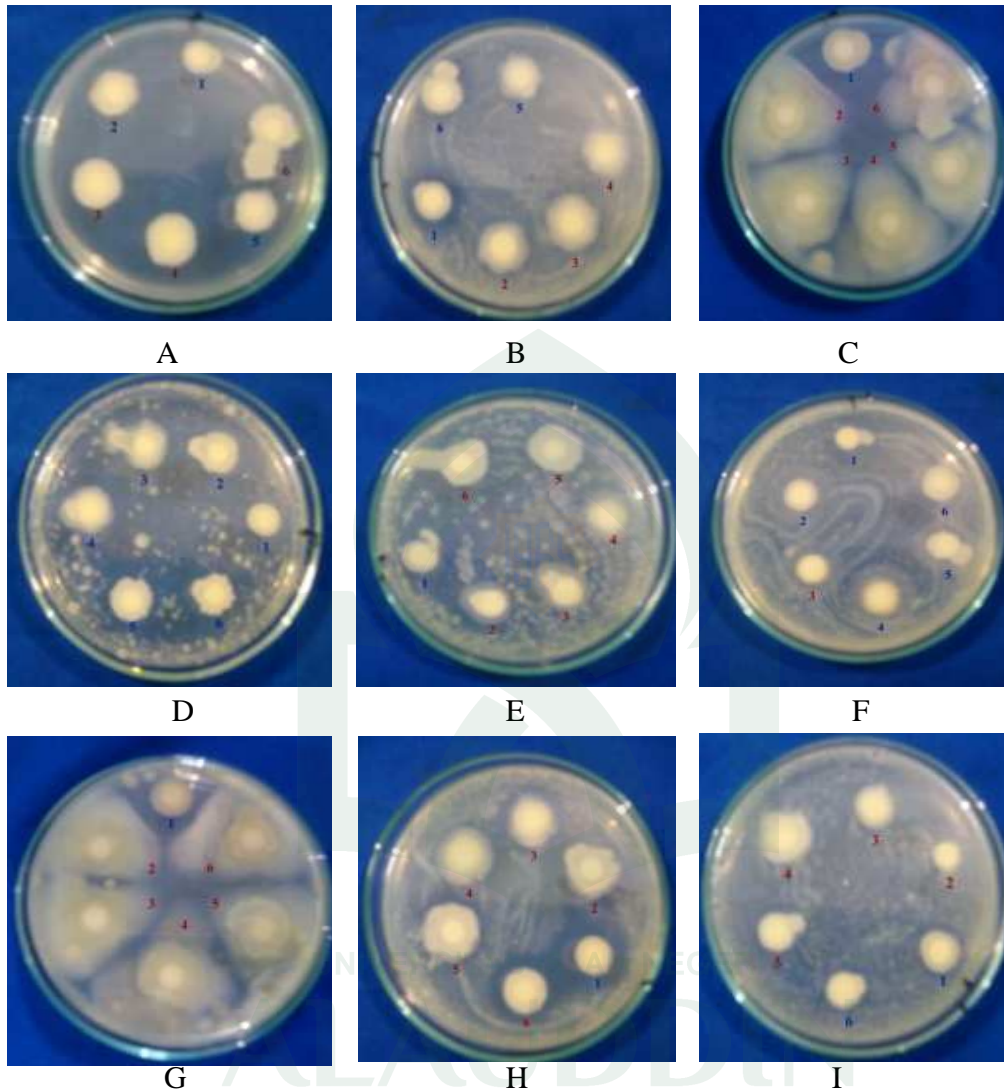


Gambar 8. Foto Hasil Pengujian Penghambatan Fermentat Isolat Bakteri terhadap Mikroba Uji

Keterangan :

A= *Streptococcus mutans*
 B= *Pseudomonas aeruginosa*
 C= *Salmonella typhi*
 D= *Bacillus subtilis*
 E= *Vibrio sp*
 F= *Stapilococcus epidermidis*
 G= *Escherichia coli*
 H= *Staphylococcus aureus*
 I = *Candida albicans*

1 = RB₁
 2 = RB₂
 3 = RB₃
 4 = RB₄
 5 = RB₅

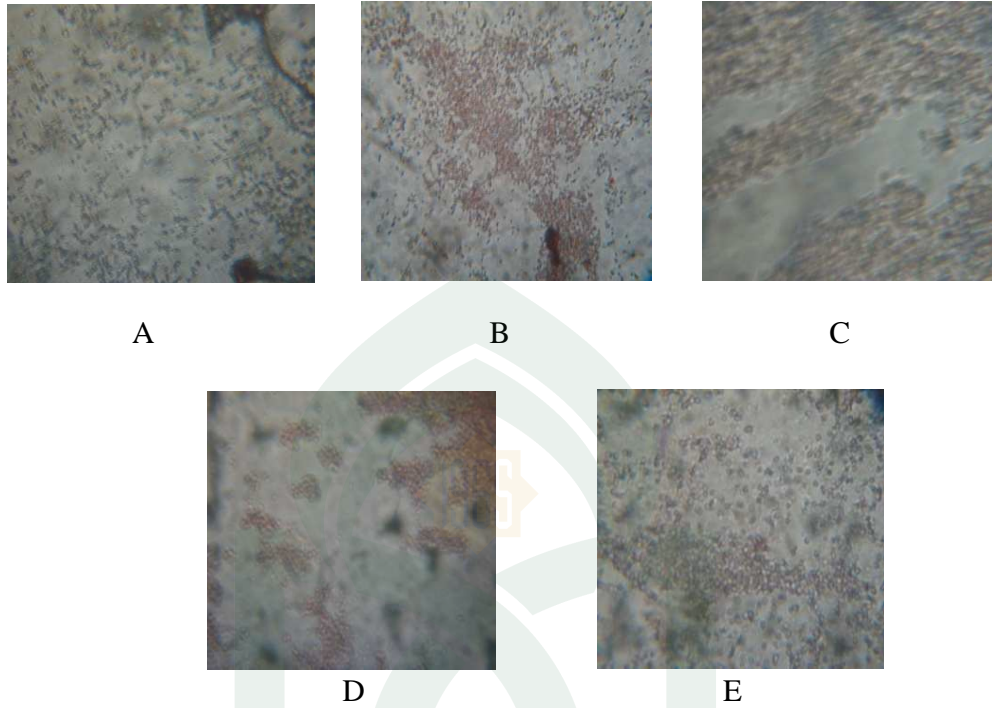


Gambar 9. Foto Hasil Pengujian Penghambatan Fermentat Isolat Jamur terhadap Mikroba Uji

Keterangan :

A = *Streptococcus mutans*
 B = *Staphylococcus aureus*
 C = *Staphylococcus epidermidis*
 D = *Candida albicans*
 E = *Bacillus subtilis*
 F = *Vibrio sp*
 G = *Pseudomonas aeruginosa*
 H = *Escherichia coli*
 I = *Salmonella typhi*

1 = RJ₁
 2 = RJ₂
 3 = RJ₃
 4 = RJ₄
 5 = RJ₅
 6 = RJ₆



Gambar 10. Foto Hasil Pengecatan Gram Isolat Bakteri Murni.

Keterangan :

A = Koloni Bakteri RB₁

B = Koloni Bakteri RB₂

C = Koloni Bakteri RB₃

D = Koloni Bakteri RB₄

E = Koloni Bakteri RB₅



A



B



C

Gambar 11. Foto Kanal AL-Markaz

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

ALAUDDIN

MAKASSAR



Gambar 12. Foto antimicrobial susceptibility test discs

Lampiran 1. Komposisi dan Pembuatan Medium

a. Gelatin

Komposisi : (128 g/L)

Ekstrak beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Gelatin	120,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium gelatin sebanyak 12,8 g, dilarutkan dalam 100 ml selama 15-30 menit dengan suhu 50°C hingga membentuk larutan gelatin setelah itu disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Fenol merah glukosa, sukrosa, dan laktosa

Komposisi : (26 g/L)

Pepton	10,0 g
Ekstrak Beef	1,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Fenol Merah	0,0018 g
Gula-gula	10,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang pepton 1 g, ekstrak beef 0,1 g, NaCl 0,5 g, fenol merah 0,0018. 1 g (glukosa, sukrosa, laktosa). Dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga melarut. Disterilkan pada suhu 116-118°C min 2 menit selama 15 menit.

c. Nutrient Agar (NA)

Komposisi :

Ekstrak Beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Agar	15,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Ditimbang bahan sebanyak 23,0 g dilarutkan dalam 1000 ml sampai larut, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Nutrient Broth (NB)

Komposisi : (8 g/L)

Ekstrak Beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Semua bahan di masukkan ke dalam erlemeyer dilarutkan dalam air suling hingga 800 ml, dipanaskan sampai larut, di cukupkan sampai 1000 ml aquadest, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15m menit.

e. Phenilalanin

Komposisi : (33 g/L)

DL- Phenilalanin	2,0 g
Ekstrak Ragi	3,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Dinatrium Pospat	1,0 g
Agar	12,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium Phenilalanin sebanyak 100 mg, dilarutkan dalam 100 ml dipanaskan diatas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Semisolid Indol Motiliti (SIM)

Komposisi : (30 g/L)

Pepton dari Casein	20,0 g
Peptic dari daging	6,1 g
Ferri Amonium sulfat	0,2 g
Natrium thiosulfat	0,2 g
Agar	3,5 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium SIM sebanyak 3 g, dilarutkan dalam 100 ml dipanaskan diatas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

g. Simon's Citrat Agar (SCA)

Komposisi : (35 g/L)

Natrium Citrat	2,0 g
NaCl	5,0 g
Dikalium Hidrogen Pospat	1,0 g
Ammonium Dihidrogen pospat	1,0 g
Magnesium Sulfat	0,2 g
Brom timol biru	0,08 g
Agar	15,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium Simon'S Citrat Agar sebanyak 3,5 g, dilarutkan dalam 100 ml dipanaskan diatas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

h. Trypton 1%

Komposisi : (26 g/L)

Pepton	20,0 g
--------	--------

Glukosa	1,0 g
Natrium klorida	5,0 g
Thiaminum diklorida	0,005 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium tripton sebanyak 2,6 g. Dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Dipanaskan diatas penangas air hingga suhu 40-50 °C.

- i. VP (Voges-Proskauer broth) atau medium metil merah

Komposisi : (32 g/L)

Polypepton	7,0 g
Dextrose	5,0 g
Dapar dikalium pospat	5,0 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium VP sebanyak 3,2 g, dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Dipanaskan diatas penangas air hingga suhu 40-50°C.

- j. Urea Broth

Komposisi : (18,71 g/L)

Ekstrak Ragi	0,1 g
Kalium Dihidrogen Pospat	9,1 g

Natrium Hidrogen Pospat	9,5 g
Urea	20,0 g
Fenol merah	0,01 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium Urea Broth sebanyak 1,87 g, dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml air suling dan dipanaskan hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 2. Komposisi dan Pembuatan Pereaksi

a. Alfa-Naftol 1%

Ditimbang Alfa naftol 1 g, dalam alkohol absolute 100 ml

b. Cat A

- Larutan pokok kristal violet

Komposisi :

Kristal violet	20,0 g
Etanol 95%	100,0 ml

- Larutan oksalat

Ammonium oksalat	1,0 g
Air suling	100,0 ml

Larutan yang digunakan dilaboratorium :

Larutan pokok Kristal violet	1 bagian
------------------------------	----------

Air suling 10 bagian

Larutan pokok ammonium oksalat 4 bagian

Pembuatan :

Dicampur larutan (1) dan (2), kemudian disimpan dalam wadah tertutup gelas.

c. Cat B

- Larutan Iodium

Komposisi :

Kristal iodium 1,0 g

Kalium Iodida 2,0 g

Air suling 5,0 g

Pembuatan :

Setelah kedua bahan tersebut larut, ditambahkan air suling 240 ml dan 60 ml cairan Natrium bikarbonat 5%..

d. Cat C

- Larutan pemucat

Komposisi :

Etanol 95% 250 ml

Aseton 250 ml

Pembuatan :

Dicampurkan kedua bahan tersebut, kemudian disimpan dalam wadah tertutup gelas.

e. Cat D

- Larutan pokok safranin

Komposisi :

Safranin O 2,5 g

Etanol 95% 100,0 ml

Larutan yang digunakan dilaboratorium

Diencerkan dengan safranin,

Larutan pokok safranin 1 bagian

Air suling 5 bagian

Pembuatan :

Dicampurkan kedua bahan tersebut, kemudian disimpan dalam botol tertutup gelas.